

⑩ 日本国特許庁(JP)

⑪ 特許出願公告

⑫ 特許公報(B2)

平5-55148

⑬ Int.Cl.⁵A 61 L 25/00
27/00

識別記号

A
F

庁内整理番号

7180-4C
7180-4C

⑭公告 平成5年(1993)8月16日

請求項の数 25 (全5頁)

⑮発明の名称 流動性のある脱ミネラル化した骨粉組成物及びその骨治療での使用

⑯特 願 平2-250407

⑰公 開 平3-210270

⑱出 願 平2(1990)9月21日

⑲平3(1991)9月13日

優先権主張

⑳1989年9月21日㉑米国(US)㉒410596

㉓1990年8月27日㉔米国(US)㉕573458

⑳発 明 者

ロバート ケイ オレ アメリカ合衆国ニュージャージー州 07762 スプリング
アリー レーク セント クレア アベニュー 110

㉑発 明 者

バトリック エイ マ アメリカ合衆国ペンシルベニア州 19067 ヤード レイ
クブライヤー ステイプラー ドライブ 1522

㉒出 願 人

オステオテック イン アメリカ合衆国ニュージャージー州 07701 スレースパ
コーポレーテッド リー スレースバリー アベニュー 1151イー

㉓代 理 人

弁理士 斉藤 武彦 外2名

審 査 官

橋 本 伝 一

㉔参 考 文 献

特公 昭61-9059 (JP, B2)

米国特許4563489 (US, A)

米国特許4440750 (US, A)

1

2

⑮特許請求の範囲

1 液状ポリヒドロキシ化合物、液状ポリヒドロキシ化合物誘導体、固体状ポリヒドロキシ化合物の溶液、固体状ポリヒドロキシ化合物誘導体の溶液及びそれらの混合物からなる群から選ばれた生体適合性キヤリヤと脱ミネラル化した骨粉からなることを特徴とする骨の欠陥部位の新しい骨の生長を促進するために骨欠陥部位に付与するための流動性組成物。

2 該キヤリヤがグリセロール、グリセロールモノエステル又はグリセロールジエステルである請求項1記載の組成物。

3 該キヤリヤがモノサツカライド、モノサツカライド誘導体、ジサツカライド、ジサツカライド誘導体、オリゴサツカライド、オリゴサツカライド誘導体又はこれらの混合物である請求項1記載の組成物。

4 該キヤリヤがフラクトース、グルコース又はそれらの混合物である請求項1記載の組成物。

5 該キヤリヤがスクロースの溶液である請求項

1記載の組成物。

6 該キヤリヤがスクロースの水溶液である請求項1記載の組成物。

7 該キヤリヤがグリセロールの脂肪酸モノエステルの溶液である請求項1記載の組成物。

8 該キヤリヤが異なる液状ポリヒドロキシ化合物及び/又はその誘導体に溶解した脂肪酸モノエステルである請求項1記載の組成物。

9 該キヤリヤがクロロビレングリコール、グリセロール、モノアセチン、ジアセチン、液状ポリエチレングリコール及びそれらの混合物からなる群から選ばれた溶媒に溶かした脂肪酸モノエステルである請求項1記載の組成物。

10 キヤリヤが溶媒に溶かしたグリセロールモノラウレートである請求項1記載の組成物。

11 該キヤリヤが異なる液状ポリヒドロキシ化合物及び/又はその誘導体に溶解した脂肪酸モノエステルである請求項1記載の組成物。

12 該キヤリヤがクロロビレングリコール、グリセロール、モノアセチン、ジアセチン、液

3

状ポリエチレングリコール及びそれらの混合物からなる群から選ばれた溶媒に溶かした脂肪酸モノエステルである請求項 1 記載の組成物。

13 該脱ミネラル化した骨粉の平均粒子径が約 0.1~約 1.2 μ m である請求項 1 記載の組成物。

14 該脱ミネラル化した骨粉の平均粒子径が約 0.2~約 1 μ m である請求項 1 記載の組成物。

15 該脱ミネラル化した骨粉が皮質骨、がん性及び／又は副腎皮質の自生、変異性及び／又は他生の骨組織から誘導されたものである請求項 1 記載の組成物。

16 脱ミネラル化した骨粉を約 5~約 90 重量%、キャリアを約 10~約 95 重量%含有する請求項 1 記載の組成物。

17 脱ミネラル化した骨粉を約 20~約 80 重量%、キャリアを約 20~約 80 重量%含有する請求項 1 記載の組成物。

18 抗菌剤、抗生物質、抗ウイルス剤、アミノ酸、ペプチド、ビタミン、無機元素、蛋白合成コファクター、ホルモン、内分泌腺組織、シンセサイザー、酵素、実質細胞を伴ったポリマーセル骨組剤、脈管形成剤、ポリマー性の医薬キャリア、カラーゲン格子、抗原剤、細胞骨格剤、間葉ステム細胞、骨分解剤、抗腫瘍剤、細胞誘引剤、フィブロネクチン、生長ホルモン、細胞接着剤、ヒドロキシアパタイト及び透過性増強剤からなる群から選ばれる少なくとも 1 の添加成分を含有してなる請求項 1 記載の組成物。

19 生化学分解性ポリマーを含有する請求項 1 記載の組成物。

20 骨組織形成性蛋白、トランスホーミング生長因子、およびインシュリン様生長因子の少なくとも 1 つから選ばれた少なくとも 1 つの追加成分を含む請求項 1 記載の組成物。

21 ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、カルボキシメチルセルロース、ペクチン、食品級のテキスチャリング剤、ゼラチン、デキストラン、カラーゲン、でんぷん、水解ポリアクリロニトリル、水解ポリアクリルアミド、およびポリアクリル酸塩の少なくとも 1 つから選ばれたシツクナーを追加して含む請求項 1 記載の組成物。

22 脱ミネラル化した骨形成用骨粉を酸脱ミネラル化処理にける請求項 1 記載の組成物。

4

23 脱ミネラル化した骨粉を更に脱脂／殺菌処理にける請求項 2 2 記載の組成物。

24 キャリヤがスクロースとグリセロールとの流動性のある溶液又はペーストである請求項 1 記載の組成物。

25 キャリヤがスクロースとポリエチレングリコールとの流動性のある溶液又はペーストである請求項 1 記載の組成物。

発明の詳細な説明

10 (産業上の利用分野)

本発明は流動性のある脱ミネラル化した骨粉組成物は骨欠陥の外科的治療での該組成物の使用に関する。

(従来技術)

15 骨欠陥の治療に脱ミネラル化した骨粉を用いる検討は既になされている。骨粉は 1 以上の部質、多分骨形成性蛋白質 (BMP) を含有しており、これが欠陥部位における骨の再生を誘発する。たとえば Covey 等の Orthopaedic Review, Vol. X

20 VII, No. 8, 857-863 (1989 年 8 月) 参照。

Habal 等の Annals of Plastic Surgery, Vol. 15, No. 2, 138-142 (1985 年 8 月) によれば、ペースト状物質にまで粉碎し自生血液と混合した自生骨を犬の長い骨の欠陥の治療 (代替) に用い

25 ている。

(発明の開示)

本発明の目的は外科的な骨の治療 (リペア) に用いる流動性のある脱ミネラル化した骨粉組成物を提供することにある。

30 更に詳しくは本発明の目的は脱ミネラル化した骨粉と骨粉用キャリアとしての液状ポリヒドロキシ化合物とからなる液状又はペースト状の組成物 (チキソトロピー剤や医薬等の任意成分はあつてもなくてもよい) 及び該組成物を骨欠陥部位に付与して新しい骨の内部生長を誘発する方法を提供することにある。

本発明は液状ポリヒドロキシ化合物、液状ポリヒドロキシ化合物誘導体、固体状ポリヒドロキシ化合物の溶液、固体状ポリヒドロキシ化合物誘導体の溶液及びそれらの混合物からなる群から選ばれた生体適合性キャリアと脱ミネラル化した骨粉からなることを特徴とする骨の欠陥部位の新しい骨の生長を促進するために骨欠陥部位に付与するための流動性組成物にある。

5

本発明の組成物を骨欠陥部位、たとえばけが、感染、悪性もしくは進行性の奇形等に基づく欠陥部位に付与すると骨生成、骨誘導及び骨誘発等の1又は2以上の機構によつて急速な骨の内部生成がもたらされる。

本発明の骨粉組成物はそれが必要なときに容易に調製することができ、好ましくは本発明組成物の成分を混合するための部材と該組成物を骨欠陥部位に付与する部材を一体形キットの形で用意する。また本発明の骨粉組成物を予じめ調製し、後日の使用のために無菌条件下に保存することもできる。

本発明組成物における脱ミネラル化した破砕又は粉末化した骨成分は公知の物質であり公知の方法でつくられる。ここで「破砕した骨」「粉末化した骨」「骨粉」は比較的微細な粉末から粗粒さらには大きなチップも含む広い範囲の骨粒子を包含するものである。従つてたとえば本発明組成物中に存在する骨粉は約0.1〜約1.2cm、より好ましくは約0.2〜約1.0cmの平均粒径をもちうる。骨粉は皮質骨、がん性及び／又は副腎皮質の自生、変異性及び／又は他生の骨組織から得られる。通常変異性の骨組織が骨粉源として好ましく用いられる。

好ましい骨の脱ミネラル化法において、まず骨を所望の平均粒径に破砕し次いで脱脂／殺菌し、酸による脱ミネラル化処理する。好ましい脱脂／殺菌溶液としてはエタノール水溶液がある。エタノールは脂質分に対する良溶媒であり、水はすぐれた親水性キャリアであり該溶液を骨中により深く浸透させる。エタノール水溶液はまた直物性微生物及びウイルスを殺すことにより骨を殺菌する。通常少なくとも約10%〜40%の水（即ち約60%〜90%のアルコール等の脱脂剤）を脱脂、殺菌溶液中に存在させることが、最適の脂質除去と殺菌とを最も短時間で達成する上で好ましい。脱脂溶液の好ましい濃度はアルコール濃度約60%〜85%であり、最も好ましいアルコール濃度は約70%である。脱脂に続き、骨を脱ミネラル化するに足る時間酸中に浸漬する。この操作で用いる酸としては塩酸等の無機酸及び過酢酸等の有機酸がある。酸処理後骨粉を射出用に無菌水ですすぎ、パツファで最終の予めきめたpHに調整し最後に水ですすぎ残存する酸とパツファを除く。脱ミネラル

6

化した骨粉は直ちに本発明の組成物の製造に用いることもできるし無菌条件下、好ましくは凍結乾燥状態で保存して後は組成物の製造に供することもできる。

5 所望により、骨粉を1又は2以上の方法で変性することもできる。たとえば骨粉の多孔度を増加させ及び／又は骨粉を1又は2以上の変性剤、たとえばグルタルアルデヒド（米国特許第4678470）等で処理することができる。また米国特許第10 4743259号及び4902296号に開示されているように、骨粉の骨蛋白含量を増加又は変化させることもできる。

本発明の流動性のある骨粉組成物には種々の製薬上／外科上有用な物質を、たとえば所望の物質の溶液又は分散液に骨粉を浸漬したり、これら物質をポリヒドロキシ化合物成分に添加したり又は直接流動性のある骨粉組成物に添加する等の手段によつて導入することができる。本発明組成物に容易に導入しうる製薬上／外科上有用な物質には、たとえばコラーゲン及び不溶性コラーゲン誘導体、ヒドロキシアパタイト等、及び可溶性固体及び／又は液体、たとえば、抗ウイルス剤、特にHIV及び肝炎に対し有効なもの；抗菌剤及び／又は抗生物質、たとえばエリスロマイシン、バシトラシン、ネオマイシン、ペニシリン、ポリミキシンB、テトラサイクリン、バイオマイシン、クロロマイセチン、ストレプトマイシン、セフアゾリン、アムピシリン、アザクタム、トブラマイシン、エリンダマイシン及びゲンタマイシン等；アミノ酸、ペプチド、ビタミン、無機元素、蛋白合成用コファクター、ホルモン、内分泌腺組織又は組織フラグメント、シンセサイザー、酵素、たとえばコラーゲン、ペプチダーゼ、オキシダーゼ等、実質細胞を伴つたポリマーセル骨組剤、脈管形成剤及びこれら医薬を含有するポリマーキャリア、コラーゲン格子、生化学的相溶性のある表面活性剤、抗原剤、細胞骨格剤、軟骨フラグメント、生細胞、たとえばコンドロサイト、骨髄細胞、間葉ステム細胞、天然抽出物、組織移植体、生化学接着剤、組織形成性蛋白（BMP）、トランスフォーミング生長因子（TGF- β ）、インシュリン様生長因子（IGF-1）、生長ホルモン、たとえばソマトトロピン、骨分解剤、抗腫瘍剤、フィブロネクチン、細胞誘引剤、細胞接着剤、免疫

抑制剤、透過性増強剤、たとえばポリエチレングリコールのラウレート、ミリステート及びステアレート等の脂肪酸エステル、エチミン誘導体、アルファケトアルデヒド等、核酸、及び米国特許第4764364号、4765973号及びヨーロッパ特許出願第168277号に開示されているような生化学分解性ポリマー等がある。これら任意添加成分の量は広範囲で変化させることができるが、それぞれの最適量は通常の実験で容易に決定しうる。

本発明の脱ミネラル化した骨粉組成物は、前記した如き脱ミネラル化した骨粉を、骨粉用のキャリヤ又は懸濁剤として機能する生化学的相溶性のある液状ポリヒドロキシ化合物と組合せることによつて得られる。

ここで「液状ポリヒドロキシ化合物」「液状ポリヒドロキシ化合物誘導体」とは、純粋又は高濃度状態で且つ周囲温度、たとえば15〜40°Cで、流動性のある液体である形の化合物を包含するものである。ここで用いる「固体状ポリヒドロキシ化合物」「固体状ポリヒドロキシ化合物誘導体」とは、純粋又は高濃度状態で且つ周囲温度にて、通常固体又は半固体であるが、適当な溶媒、たとえば水、生理的食塩水、エタノール、グリセロール、グルコース、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール（分子量200〜1000）等又はそれらの混合物には溶けて液状組成物となる形の化合物を包含するものである。機能的には、骨粉組成物のキャリヤ成分は広範囲の濃度の流動性物質をもたらすものである。ここで「流動性（のある）」とは形状保持性はあるが容易に変形する濃度は、たとえばバテのような挙動を示すもの等をも包含するものである。流動性のある骨粉組成物の特殊な形にはケーキ、ペースト、クリーム、ファイバー等がある。

有用なポリヒドロキシ化合物は2〜約18の炭素をもち非環状多価アルコール、非還元性シュガー、シュガーアルコール、シュガー酸、モノサツカライド、ジサツカライド、水溶性又は水分散性オリゴサツカライド、ポリサツカライド、及びこれらの公知の誘導体等がある。ポリヒドロキシ化合物の更なる例にはエチレングリコール、ジエチレングリコール、トリエチレングリコール、1, 2-プロパンジオール、トリメチロールエタン、トリメチロールプロパン、エリスリトール、ベン

タエリスリトール、ポリアルキレングリコール、たとえばポリエチレングリコール、キシリトール、ソルビトール、マンニトール、ダルシトール、アラビノース、キシロース、リボース、アドニトール、アラビトール、ラモゼ、イノシトール、フラクトース、ガラクトース、グルコース、マンノース、ソルボース、スクロース、マルトース、ラクトース、マルチトール、ラクチトール、スタチオース、マルトペンタオース、シクロマルトヘキサオース、カラギーナン、寒天、アルギン酸、グアーガム、ガムトラガカンズ、O-カストビンガム、アラビアガム、キサンタンガム、アミロース、前記いづれかの混合物等がある。

前記ポリヒドロキシ化合物の誘導体、特にエステル誘導体も有用である。たとえばグリセロールの液状及び固体状モノエステル及びジエステルはすぐれた効果を示す。この固体状エステルはプロピレングリコール、グリセロール、ポリエチレングリコール（分子量200〜1000）等の適当なビヒクルにそれらの溶解度限度まで溶解される。液状グリセロールエステルには特に好ましいグリセロールモノラウレート、グリセロールパルミテート、グリセロールモノステアレート等のグリセロールの脂肪酸モノエステルがある。特に好ましいキャリヤはグリセロールに溶解したグリセリルモノラウレート又はグリセロールとプロピレングリコールとの4:1〜1:4混合物からなるものである。

前記したポリヒドロキシ化合物のうち、グリセロール及びその液状モノエステル及びジエステル、たとえばモノアセチン、ジアセチン、フラクトース、グルコース及びスクロース及びそれらの混合物がより好ましい。ポリヒドロキシ化合物がたとえばスクロースのように固体である場合には、水、グリセロール、ポリエチレングリコール（平均分子量200〜1000）又はそれらの混合物等の溶媒を用いてこの化合物の流動性のある溶液又はペーストにすることが好ましい。

骨粉がキャリヤからすぐに又は分離するとか沈殿する傾向があつて均一組成物の付与が困難な場合には、その傾向を抑え又は減少させるチキソトロピー特性をもつ物質を添加することが好ましい。たとえばキャリヤ成分がグリセロールで骨粉の分離が過度に起こる場合には、ポリビニルアル

コール、ポリビニルピロリドン、セルロースエステル、たとえばヒドロキシプロピルメチルセルロース、カルボキシメチルセルロース、ペクチン、食品級のテキスチャリング剤、ゼラチン、デキストラン、コラーゲン、でんぷん、水解ポリアクリロニトリル、水解ポリアクリルアミド、多電解質、たとえばポリアクリル酸塩等を組成物の懸濁維持特性を改良するに十分な量でキャリアに添加しうる。

前記したように、本発明の骨粉組成物は、骨粉とキャリアと任意成分を適宜の混合順序又は同時に混合することにより、使用直前に調製することができる。骨粉はまず任意成分と混合し、次いでキャリア成分と混合してもよいし、骨粉をキャリア成分と混合してから任意成分を添加してもよいし、又は任意成分をキャリアに添加してから骨粉を添加してもよい。これらの添加操作の順序の変更は勿論可能である。本発明組成物に導入される骨粉の量は約5〜約90重量%、好ましくは約20〜約80重量%であり、残余はキャリアが占めうる。本発明組成物を使用時に調製するために、骨粉、好ましくは凍結状態の骨粉、とキャリア（前記した任意成分を含有する）とを、無菌状態で、別々のパッケージ又は容器中に保存し使用時に適宜の部材を用いて骨欠陥部位に直ちに付与できるようにすることができる。この場合の付与部材としてはシリンジ等がある。米国特許第4458733号には前記の保存と混合と付与を行なうに適する保存、混合、付与（塗布）部材が開示されており、本発明にも有効である。また骨粉組成物を多量に調製し使用時までシリンジその他の適当な塗付装置の胴体内に無菌状態で保存することもできる。

本発明の骨粉組成物は種々の方法で骨欠陥部位に付与しうる。たとえば高粘性ペースト状の組成物で該部位を充填する等の方法が用いうる。本発明組成物は、標準的な関節形成性、骨格又は他の骨欠陥の再構成に有効に用いうるしまた内部及び外部固定装置の有効性を増大する。

次に実施例により本発明の流動性のある脱ミネラル化した骨粉組成物の調製について説明する。

実施例 1

一定量の同種の皮質性又は海綿質の骨を破碎して約100〜約500 μ の平均粒径のものをふるいとり、反応器に入れ密封した。70%エタノール溶液を骨1g当り30mlの割合で反応器に入れ1時間攪拌し（Bolander等、Journal of Bone and Joint Surgery, Vol.68-A, No.8 (1986年10月)、骨粉の脱脂と消毒をした。エタノールをぬいてから0.6NのHCl溶液の骨1g当り50ml反応器に入れ（Bolander等上記）、反応を3時間行なう（Glowackie、AATB Workshop、第11回年次会議（1987））。HClをぬいてから骨をインジェクション（WFI）用の水で3回すすぎ、WFIは5分間隔で置きかえた。WFIをぬいてから、骨を0.1Mのリン酸ナトリウムで完全にカバーし溶液のpHが6.8〜7.4の間になるまでこの操作をくりかえした。WFIでのすすぎ法をくりかえして脱ミネラル化した皮質性又は海綿質の骨粉をつくった。

このようにしてつくった脱ミネラル化した骨粉25gと注射級のグリセロール95gを十分に混合してペースト状濃度の組成物をつくった。この組成物はシリンジ、ヘラ、デンタルガムその他の適当な装置を用いて、骨欠陥部位に容易に付与できる。

実施例 2

実施例1の脱ミネラル化した骨粉をフラクトース50重量%、デキストロース50重量%の流動性混合物と3つの異なる濃度で混合してそれぞれ骨粉を25、35及び50重量%含有する流動性のある脱ミネラル化した骨粉ペーストをつくった。この骨粉ペーストは組成物全体が堅牢且つなめらかで空気中で8〜12時間で硬化した。

骨粉用の液状ポリヒドロキシ化合物キャリアとしてスクロース水溶液を用いて同様の結果を得た。